

Opponensi vélemény



Hatvani Nóra: "A *Lentinus edodes* (Shiitake) micélium növekedésének és extracelluláris enzimrendszerének vizsgálata" címmel Ph.D. fokozat megszerzéséért benyújtott disszertációjáról

Hatvani Nóra disszertációjában a napjainkban rendkívül közkedvelt shiitake gomba termelése körüli néhány gyakorlati és elméleti kérdés megválaszolására vállalkozott. A biotechnológiailag és iparilag jelentős gombáról az elmúlt évtizedekben számos közlemény látott napvilágot, amely a gomba termőtest képzésének molekuláris mechanizmusával, a fejlődés - irányította gének klónozásával, szekvenálásával, a ligninolitikus enzimrendszer tanulmányozásával, antikarcinogén és immunstimuláló hatásának tanulmányozásával foglalkozott. Hatvani Nóra a micélium növekedés és az extracelluláris enzimrendszer vizsgálatát tűzte ki célul, tehát alapvetően biotechnológiai igényű munkát végzett.

A 68 oldal terjedelmű dolgozat a szokásostól eltérően, a két témarészt külön dolgozza fel.

A disszertáció első fejezetében visszafogott, rövid ismertetőt találunk a *Lentinus edodes* biotechnológiai jelentőségéről. A gomba fontosságára való tekintettel részletesebb irodalmi áttekintést várnék (talán mikrobiológus voltomnak köszönhetően) taxonómiájáról, morfológiájáról, fiziológiájáról illetve, az általuk termelt nagyhatású és biológiailag aktív vegyületekről, kémiai természetükről, esetlegesen bioszintézisükről.

A második fejezet a micéliumok növekedésével kapcsolatos vizsgálatokról szól.

Az "ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK" című rész pontos leírása a kísérletek során alkalmazott technikának.

Az "EREDMÉNYEK" ill az "AZ EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE" rész három alfejezetre osztható a kísérleti célkitűzéseknek megfelelően:

- az *első* részben a szerves ionok és növekedés közötti összefüggéseket,
- a *második* alfejezetben a különböző táptalaj komponensek optimális összetételét,
- majd *harmadik* alfejezet a nehézfém ionok növekedés gátló hatását vizsgálja.

Megállapítja, hogy a mind a szerves ionok, mind a nehézfém ionok egy meghatározott koncentráció érték felett növekedést, szaporodást gátolnak.

Kérdésem e fejezettel kapcsolatosan: a gyakorlatban megvalósítható eljárásnak tartja-e a nitrit (közvetve a nitrát) mutagén hatásának kivédését a kísérletei során alkalmazott tea extraktum vagy aszkorbinsav segítségével?

A harmadik fejezet az extracelluláris enzimrendszer vizsgálatát tartalmazza.

Ügyes bevezető, vagy inkább irodalmi áttekintés kárpótol az első részben említett hiányosságért. Alaposan részletezi a lignin lebontásában résztvevő enzimrendszerek szerepét, működését, stb. A célkitűzésekben világosan megfogalmazott feladatokat jelöl meg. Modern biokémiai eljárásokat alkalmaz az enzim rendszerek vizsgálatára. Új eredményekként értékelhetők:

- hogy meghatározta az extracelluláris enzimtermelés és annak degradációs működése szempontjából fontos optimális táptalaj összetételt, ill.
- hogy bizonyította a *Trichoderma* metabolitok enzim termelésre gyakorolt indukciós és gátló hatását.

A dolgozat ezen része kapcsán felmerült kérdéseim a következők:

1. Vannak-e ismeretei– irodalmi feldolgozás vagy saját tapasztalatai, kísérletei alapján a *Trichoderma* metabolitok természetéről?

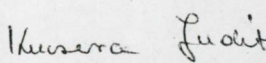
2. A *L. edodes* és *Trichoderma* telepek szélek összenövésekor van-e látható-e jele annak, hogy a micéliumok egymással interakcióba lépnek? Elképzelhető-e, hogy az antagonizmus során valamilyen toxikus hatású anyagot termelnének?

A disszertáció szép kivitelezésű, illusztrációs anyaga szemléletes, grafikonokkal és fotóanyaggal is ellátott. Stílusa, a fentiekben említett szerkesztési probléma ellenére, követhető és olvasmányos. Az apró gépelési hibák nem befolyásolják a disszertáció minőségét.

A disszertáció angol nyelvű összefoglalója mind szakmai mind szaknyelvi szempontból kitűnő.

Hatvani Nóra jelen munkája, eddigi publikációs tevékenysége, a fenti kritikai észrevételek ellenére, kétségtelenné teszi, hogy egy értékes, új eredményeket bemutató disszertációt készített. A munka gyakorlati biotechnológiai célú, melynek elméleti fontossága is egyértelmű. A dolgozat nyilvános vitára bocsátását és a PhD fokozat odaítélését javaslom.

Szeged, 2002. június 4.


Avasiné Dr. Kucsera Judit



B 3801

Opponensi vélemény

Hatvani Nóra: *A Lentinus edodes* (Shiitake) micélium növekedésének és extracelluláris enzimtermelésének vizsgálata c. PhD értekezéséről

A dolgozat a biotechnológia olyan aktuális kutatási területével kapcsolatos, amely közvetlenül átvezet a gyakorlati alkalmazáshoz is. Ez a terület a gyógyhatású shiitake gomba fermentációs technológiával való szaporításának laboratóriumi szintű optimalizálása, valamint a gomba micélium bioremediációs célú alkalmazási lehetőségének kidolgozása. Utóbbi kérdéshez kapcsolódik két kulcsenzim aktivitását befolyásoló fiziológiai körülmények vizsgálata, ami fontos kiindulópontja lehet a gomba-parazita kapcsolat felderítésének is.

A dolgozat terjedelmét és tartalmát tekintve megfelel az SZTE Doktori Szabályzat előírásainak és az általános elvárásoknak, azonban indokolatlannak tartom két teljesen elkülönülő részre való felosztását. Ennek során ismétlődnek a Bevezetés, Célkitűzések, Anyag és módszer, valamint az Eredmények és Értékelés fejezetek, holott a két rész kísérletes munkája szervesen kapcsolódik egymáshoz, sem a módszereket, sem pedig az eredményeket tekintve nem tartom indokoltnak aszétválasztást. Ez az eredmények áttekinthetősége szempontjából eléggé zavaró.

Az egyes fejezetek értékelésére az alábbiakban térek ki.

Az 1. fejezet (*A Lentinus edodes* biotechnológiai jelentősége) valójában a Bevezetés, az ezt követő 2.1. (Bevezetés) rész pedig Célkitűzésnek tekintendő. A hozzájuk tartozó irodalmi áttekintés azonban kevés, ami valójában az Értékelés (2.4.) fejezetben található meg. A második nagy rész (3. Az extracelluláris enzimrendszer vizsgálata) Bevezetése (3.1.) és a Célkitűzések (3.2.) együtt egy jó irodalmi áttekintést adnak a kísérletes rész előzményeiről, amelyben néhány mondatban a célkitűzések is megtalálhatók. Az így összerakott irodalmi áttekintésről már elmondható, hogy jól feldolgozza az értekezés témájával kapcsolatos szakirodalmat. Az anyagok és módszerek rész (2.2. és 3.3. fejezetek) alapos és teljes, a jelölt gondos és jól értékelhető kísérlet tervezésére utal. A módszerek többségükben hagyományos mikrobiológiai és analitikai eljárások, azonban megfelelnek a célnak és tükrözik a jelölt leleményességét a megoldandó kérdés megválaszolásához kidolgozott rendszereket illetően.

Az eredmények bemutatását és értékelését illetően ismét szerkesztési anomáliák nehezítik az áttekintést. Az első kísérletsorozat esetében (2. fejezet) az eredményekhez (2.3. fejezet) egy összefüggő értékelés tartozik (2.4. fejezet), míg a második kísérletsorozatnál (3. fejezet) az 4 alfejezetre osztott eredményeket külön-külön értékelés követi. Ezeket is jó lett volna egyetlen értékelés részbe összevonni. Ezekről a formainak tekinthető hibáktól eltekintve úgy vélem, hogy a kísérletes eredményeket bemutató rész tudományos igényű és színvonalú, a táblázatok és ábrák jól szerkesztettek, a bemutatott eredmények alátámasztják a levont következtetéseket.

A továbbiakban szeretnék néhány észrevételt tenni vagy kérdést feltenni a kísérletes részhez kapcsolódóan.

1. A 2/4 táblázat 1. Csoportjában lévő kísérleti adatok szerint 20 g/l glükóz volt optimális, a 2. csoportba tartozó kísérleteknél mégis 10 g/l glükóz koncentrációt alkalmazott a N-forrás koncentráció optimalizálásakor. Mi volt ennek az oka?
2. Mi állhat a nehézfém tolerancia/rezisztencia háttérében gombáknál? Ismer-e erre vonatkozó publikált eredményt bazidiumos gombáknál? Véleménye szerint érdemes lenne-e mutációs kísérletet végezni a rezisztencia növelése érdekében?

3. Hány párhuzamossal, illetve hány ismétlésben végezte el a 3/5 ábrán bemutatott kísérletet? Ha több, jó lett volna statisztikailag értékelni a kísérletet, de legalább a szórást megadni.
4. A 3.4.1. és 3.4.2. fejezetek kissé nehezen követhetők, mert az eredmények bemutatása 1-es, 2-es és 3-as számú rendszerekben, illetve 1., 2. és 3. számú kísérletekben történik. Ezek jellemzői az Anyag és módszer fejezetben megtalálhatók ugyan, de csak állandóan ide visszalapozva értelmezhetők az elmondottak. Jó lett volna jellemző elnevezéssel szerepeltetni ezeket a kísérleteket. (Pl. 1-es számú rendszer helyett szilárd fázisú fermentáció, 2-es számú rendszer helyett Átfolyó oszlopreaktor, 3-as számú rendszer helyett Extrakciós fermentáció, stb).
5. A 3/8. ábrán a T124 és a kontroll jelölése azonos.
6. A képek az ábrák közé illesztve folyamatosan, ábraként számozhatók!
7. A 3/9. és a 3/10. ábráknál, de legalább a hozzájuk tartozó szövegben hasznos lett volna megadni a rövidítések jelentését!
8. Nem tulajdonítható-e a 2. kísérletnél megfigyelt, a 3/9. ábrán bemutatott lakkáz termelés növekedés a fokozott enzim szekréciónak? Történtek-e erre nézve vizsgálatok?

A jelölt nagyszámú kísérleti eredményt mutat be dolgozatában, amelyek közül számos tudományos szempontból is újnak tekinthető. Ezek az eredmények szakmai szempontból jó színvonalú angol nyelvű folyóiratokban kerültek publikálásra (4 közlemény) vagy jelenleg még elbírálás alatt állnak (2 közlemény). Ezeknél valamennyi esetben első szerző a jelölt, ami mutatja meghatározó szerepét a kísérletes munkában. Ugyancsak folyamatosan publikálásra kerültek az eredmények nemzetközi és hazai konferenciákon poszterek és előadások formájában.

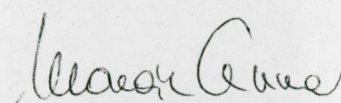
A kutatási eredmények közül az alábbiakat emelem ki, mint mint lényeges új eredményeket:

1. Tenyésztési technológiát dolgozott ki a shiitake gomba (*Lentinus edodes*) micéliumának termelési léptékben történő előállítására, melynek során optimalizálta a különböző szén- és nitrogén-forrásokat minőségi és mennyiségi szempontból.
2. Kimutatta és bizonyította a nitrit mutagén hatáson alapuló erős növekedésgátló hatását a micéliumra.
3. Meghatározta a biodegradációs szempontból kulcsfontosságú két enzim (lakkáz és Mn-peroxidáz) aktivitásának N-forrástól való függőségét és kimutatta, hogy a lebontandó (lignocellulózok indukciós hatással rendelkeznek).
4. Az egyik legérdekesebb, és a további kutatások szempontjából legígéretesebb kutatási irány a shiitake gomba és a *Trichoderma* parazita közötti kölcsönhatás fiziológiai hátterének tanulmányozása. Megerősítette, hogy a *Trichoderma* extracelluláris hőstabil terméke(i) növelik a védekezés szempontjából fontos lakkáz aktivitását, míg csökkentik a Mn-peroxidázét.
5. Kimutatta és mennyiségileg jellemezte a lakkáz és a Mn-peroxidáz aktivitás különböző nehézfémekkel szembeni érzékenységét. Bizonyította, hogy az aktivitás csökkenés mögött nem enzimgátlás húzódik meg, hanem az enzimszintézis rátája csökken.

Összegezve a dolgozatról és az elért eredményekről elmondottakat, az a véleményem, hogy a bírálóat elején felsorolt szerkesztési hibák formai hibáknak tekinthetők, amelyeket inkább jelölt okulása, semmint elmarasztalása céljából részleteztem. Ezek nem befolyásolják alapvetően azt a véleményemet, hogy az értekezés és a bemutatott, részben vagy egészben publikált eredmények lényeges előrelépést jelentenek a *Lentinus edodes* biotechnológiai alkalmazása irányában, mind tudományos, mind pedig gyakorlati szempontból. Az értekezés szép példája annak, hogy miként lehet egy gyakorlati problémához úgy közelíteni, hogy abból mind elméleti, mind pedig gyakorlati szempontból hasznot lehessen húzni.

Mind a jelöltnek, mind pedig témavezetőjének gratulálok a munkához és az elért eredményekhez. Az értekezést a PhD fokozat elnyerésére alkalmasnak tartom, a jelöltnek pedig a PhD fokozatot – sikeres védés esetén – messzemenően javaslom és támogatom.

Budapest, 2002. május 23.



(Dr. Maráz Anna)

e. tanár